

wate narośla kostne na brzusznej powierzchni kręgów, doprowadziły do zmniejszenia ruchomości stawów kręgosłupa w tym odcinku. Natomiast dzięki stykaniu się trzonów kręgów L—IV i S—I przez otwór powstały na miejscu trzonu kręgu L—V, doszło do nieznacznego skrócenia kręgosłupa.

Zmiany zwyrodnieniowe kręgosłupa spotyka się także u ryb: Wunder (8) donosi o skróceniu kręgosłupa pstrąga o około 40%, a w innej pracy (7) stwierdza wpływ wykrzywienia kręgosłupa u karpia na zmianę kształtu i topografii pęcherza pławnego.

Na uwagę zasługuje również fakt, że wiele spośród znanych dziś schorzeń kośćca istniało przed wieloma wiekami. Wskazują na to Lachowicz i Wyrost (2), którzy analizując materiał wykopaliskowy z wczesnośredniowiecznego

Wrocławia (X—XIII wiek) spotykali na kościach konia, krowy, świni i psa różnokształtne narośla kostne, będące pozostałością przebytych procesów zapalnych i zwyrodnieniowych.

Zwyrodnienia kręgosłupa wymagają jeszcze wielu szczegółowych badań, tym bardziej, że mogą być one przyczyną szeregu następstw i decydować o wartościach użytkowych zwierząt.

Piśmiennictwo

1. Jastrzębski T., Houszka M.: Medycyna Wet. 25, 606, 1969.
2. Lachowicz S., Wyrost P.: Medycyna Wet. 18, 326, 1962.
3. Nieberle K., Cohrs P.: Szczegółowa anatomia patologiczna zwierząt domowych, PWRiL, 1968.
4. Stefaniak W.: Rentgenologia weterynaryjna, PWRiL, 1961.
5. Stefaniak W.: Medycyna Wet. 7, 460, 1951.
6. Szakalow K. I.: Boleźni koniecznieści łoszi, Moskwa—Leningrad, 1949.
7. Wunder W.: Z. Morph. Ökol. Tiere, 50, 266, 1961.
8. Wunder W.: Z. Morph. Ökol. Tiere, 57, 249, 1966.

Adres autora: mgr inż. Wojciech Troszyński, Olsztyn—Kortowo, Blok Zootechniki m. 1c.

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

JAN BUCZEK

Enterowirusy bydła

Katedra Mikrobiologii Wydziału Weterynarii WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr T. JASTRZĘBSKI

Enterowirusy bydła (EB) stanowią dużą grupę zarazków izolowanych przede wszystkim z przewodu pokarmowego cieląt i bydła, na prowadzonych *in vitro* hodowlach komórek. Pierwsze doniesienie o ich wykryciu opublikował Kunin, Minuse (43) oraz Moll, Finlayson (64) w USA, w 1957 r. Następnie izolowano je kolejno w innych krajach jak: Anglia (57), Japonia (37), Niemcy (8), Szwecja (31), Belgia (34), Szwajcaria (18), Bułgaria (4), Włochy (51), Australia (86), Jugosławia (29), Polska (17), Połudn. Afryka (73), Egipt (82), Dania (81), Hiszpania (66), Rumunia (28) i Francja (33). Szeroko rozpowszechnione wśród bydła a szczególnie cieląt (54) EB stanowią przedmiot licznych prac badawczych, mających na celu poznanie ich właściwości fizycznych, chemicznych i biologicznych oraz wyjaśnienie znaczenia w chorobach cieląt i bydła.

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki dotychczasowych badań wirusów EB izolowanych z przewodu pokarmowego, cytopatogenych dla hodowli komórek, należących do grupy Orphan (ECBO) — na podstawie piśmiennictwa oraz własnych doświadczeń przeprowadzonych na szczepach izolowanych w kraju (13, 14, 15, 16, 17).

Właściwości fizyko-chemiczne

Enterowirusy bydła (EB) należą do grupy pikorna-wirusów zwierzęcych. Wielkość wiriona określona w mikroskopie elektronowym wynosi około 23—27 nm (16, 46, 56, 93). Trochę większe wymiary — około 31 nm posiada

wg Polson, Kipss (73) prototyp SA1. Metodami ultrafiltracji i ultrawirowania wymiary wirusów ECBO określono przeważnie również na około 23—30 nm (5, 8, 22, 25, 33, 58, 60, 86). Jedynie Moll, Ulrich (65) badając wielkość wirusów BEV1 i BEV180 metodą filtracji określili ją na około 65—160 nm. Jednak La Placa (45) dyskutując wyniki Moll, Ulricha (65) podaje, że wirusy BEV1 i BEV180 są serologicznie identyczne z wirusem 47/2 a wielkość tego ostatniego określona w mikroskopie elektronowym wynosi 25 nm (46).

Morfologia i struktura wirionu. Dotychczasowe wyniki badań w mikroskopie elektronowym dotyczące bezpośrednio wirusów ECBO nie wystarczają dla zupełnie pewnego określenia struktury, symetrii oraz ilości kapsomerów zarazka, jednak wskazują, że EB prawdopodobnie posiadają symetrię 5:3:2 a ilość ich kapsomerów wynosi 32 (56). Wyniki badań La Placa, Portolani (46), Van Der Maaten, Packer (93) oraz Buczka (16) potwierdzają kubiczną organizację wirionu.

Kwas nukleinowy. Przy pomocy inhibitorów oraz oranżu akrydyny wykazano, że materiałem genetycznym enterowirusów bydła jest jednopasmowy kwas nukleinowy typu RNA (14, 25, 35, 47, 51, 80). Ciężar molekularny oraz układ zasad w cząsteczce RNA nie zostały dotychczas przebadane.

Wpływ czynników chemicznych. Enterowirusy bydła są niewrażliwe na działanie eteru i chloroformu (6, 14, 17, 22, 29, 32,

33, 36, 44, 51, 52, 58, 62, 66, 72, 86, 93, 95). Wskazuje to, że lipidy nie odgrywają istotnej roli w cząsteczce EB. Również saponina, de-zoksycholan sodu i trypsyna nie inaktywowały dotychczas zbadanych szczepów (7, 9, 14, 32, 39, 55, 58, 82). Badania wrażliwości wirusów ECBO na 2-(α hydroxybenzyl)—benzimidazol (HBB) wykazały, że środek ten w stężeniu 50 $\mu\text{g/ml}$ hamuje replikację prawie wszystkich badanych szczepów należących do I i II grupy La Placa i wsp. (50, 74). Jednak w stężeniu 5 $\mu\text{g/ml}$ związek ten działa wybiórczo hamując tylko replikację zarazków należących do II grupy serologicznej La Placa i wsp. (75). Zostało to potwierdzone przez badania własne w odniesieniu do wirusów ECBO izolowanych w Polsce (16). Wydaje się, że próba z HBB w stężeniu 5 $\mu\text{g/ml}$ może stanowić cenny test pomocniczy w klasyfikacji wirusów ECBO. Mechanizm działania HBB na wirusy ECBO jest nieznany. Ostatnie badania własne zdają się wskazywać, że blokowana jest synteza wirusa w komórce.

Wirusy ECBO są niewrażliwe na działanie guanidyny w stężeniu 100 $\mu\text{g/ml}$ (32, 74), a wirus ECBO59 jest inaktywowany przez hydroksylaminę (82). Szczepy izolowane przez autora ulegały inaktywacji pod wpływem formaliny 1:1000 w ciągu 24 godzin (14).

Wpływ czynników fizycznych. W temperaturze 100°C zarazki giną stosunkowo szybko. Jak wykazały badania własne wirus Za1 (serotyp I) ginie w czasie do 15 sek. (14). W temperaturze 50—56°C zarazki ulegają inaktywacji w ciągu 30—60 minut, a w temp. 37°C spadek miana w ciągu 24 godz. nie przekracza 1 log (8, 14, 32, 39, 51, 58, 66, 80). Spadek miana o 50% w temp. 37°C następował po upływie 10 dni, a w temp. pokojowej po upływie około 24 dni (14). W temperaturze poniżej -20°C miano zarazków nie ulega zmianie przez długi okres czasu, według obserwacji własnych powyżej roku. W wyschniętym nawozie, zebrany ze ścian obory, zarazek pozostawał żywy przez 60 dni (96). W obecności dwuwartościowych jonów Mg^{++} w stężeniu 1 M enterowirusy bydła ogrzewane w temp. 56°C w ciągu 30 minut nie ulegają inaktywacji (9, 14, 25, 51, 80, 86, 93). Próba ta ma znaczenie praktyczne przy klasyfikacji zarazków.

Wpływ pH. Wirusy ECBO nie ulegają inaktywacji w szerokim zakresie pH (58). Praktyczne znaczenie mają badania nad zachowaniem się zarazków w środowisku kwaśnym (pH 3,0). Pozwalają one odróżnić enterowirusy od grupy rinowirusów. Enterowirusy są niewrażliwe na niskie pH, natomiast rinowirusy ulegają inaktywacji (76). Brak wrażliwości wirusów ECBO na niskie pH wykazali bardzo liczni badacze (9, 14, 25, 33, 51, 66, 80, 86).

Budowa antygenowa. Poznanie budowy antygenowej i określenie ilości serotypów wirusów ECBO ma ważne znaczenie praktyczne, zarówno dla badań nad klasyfikacją jak i nad patogenezą izolowanych szczepów. Badania prowadziło wielu autorów. Większość z nich porównywała jednak wyłącznie własne szczepy. Wykazano istnienie różnych serotypów (2, 3, 5, 8, 14, 19, 33, 39, 60, 65, 70, 71, 72, 77, 79, 89, 93, 94, 98, 99). Nieco szersze próby porównania większej ilości prototypów przeprowadzili Moscovici i La Placa (68), którzy poza własnymi szczepami (69) do badań włączyli szczepy Moll, Davisa (61) i Kunin, Minuse (44). Również Bürki (21) porównał wirusy ECBO izolowane w 6 krajach.

Badania te mają jednak znaczenie ograniczone, z uwagi na małą stosunkowo ilość porównywanych szczepów oraz z uwagi na fakt, iż w badaniach użyto surowic odpornościowych przygotowanych na królikach. Jak wykazały obserwacje, w surowicach królików występują nieswoiste inhibitory neutralizujące cały szereg wirusów, w tym także wirusy ECBO (41, 42, 59, 65). Inhibitory te są związane z frakcją albuminową i α_1 (alfa₁) surowicy (48).

Pewne światło na podział serologiczny wirusów ECBO rzuciły badania La Placa i wsp. (50), którzy używając surowic odpornościowych wyprodukowanych na kurczętach, porównali w odczynie seroneutralizacji 22 szczepy wirusów izolowanych w różnych krajach. Autorzy ci wykazali, że badane prototypy ECBO należą w zasadzie do 2 grup serologicznych. Grupa I jest jednolita. W obrębie grupy II autorzy wyróżniają 4 podgrupy, wykazujące pomiędzy sobą pokrewieństwo serologiczne. Wyniki La Placa i wsp. (50) mają duże znaczenie praktyczne i mogą stanowić podstawę do dalszych badań porównawczych wirusów ECBO.

Jak wykazały badania własne (16) wirusy ECBO izolowane w Polsce należące do I i II grupy serologicznej (14) odpowiadają I i II grupie La Placa i wsp. (50). Również Singh i wsp. (82) wskazują, że izolowany przez nich zarazek należy do I grupy La Placa. Przeprowadzenie dalszych badań porównawczych będzie miało duże znaczenie dla sklasyfikowania całej grupy EB.

Właściwości hemaglutynacyjne. Dotychczasowe badania wykazały, że niektóre szczepy ECBO hemaglutynują w temp. 4°C krwinki człowieka „0” oraz różnych gatunków zwierząt (1, 2, 14, 15, 22, 24, 25, 38, 40, 49, 51, 67, 69, 83, 85, 97).

La Placa i wsp. (50, 51) badając właściwości hemaglutynacyjne 22 szczepów ECBO izolowanych w różnych krajach wykazali, że wszystkie zarazki zaliczone przez nich do I grupy se-

rologicznej hemaglutynują krwinki mały *Macaca rhesus*, a wirusy II grupy serologicznej właściwości tej nie posiadają. Spostrzeżenie La Placa i wsp. ma dużą wartość praktyczną, gdyż stanowi dodatkowe kryterium w klasyfikacji ECBO ale wymaga dalszych, uzupełniających badań porównawczych z wirusami izolowanymi przez innych autorów. Wyniki własne, jak dotąd, potwierdzają obserwacje La Placa i wsp. (50). W doświadczeniach tych, wirusy I grupy serologicznej własnej, odpowiadającej I grupie La Placa, hemaglutynowały krwinki mały *M. rhesus*, natomiast wirusy II grupy — właściwości tych nie posiadały (15). Podobne wyniki otrzymał Schiott i wsp. (81) — izolowane przez nich wirusy pod względem właściwości hemaglutynacyjnych odpowiadały I grupie La Placa.

Mechanizm hemaglutynacji i skład hemaglutyniny EB nie są dostatecznie poznane. Badania hemaglutyniny wirusa SA1 wykazały, że jest ona związana z kapsydem wirionu. Przy pomocy ultrawierowania w gradiencie Ce Cl_2 można stwierdzić w niej 2 komponenty: jedną posiadającą identyczny ciężar z cząsteczką wirionu i drugą lżejszą. Badania przy pomocy elektroforezy wykazały identyczną ruchliwość elektroforetyczną hemaglutyniny i zarazka. Hemaglutynina EB, podobnie jak wirusy EB, jest niewrażliwa na działanie eteru i naświetlanie promieniami UV, ale wykazuje spadek aktywności pod działaniem trypsyny (97). W przeciwieństwie do wirusa, hemaglutynina nie ulega jednak inaktywacji w 56°C w ciągu 30 minut. Przechowywana w 4°C przez 1 rok zachowuje 25% aktywności (83).

H o d o w l a. Enterowirusy bydlęce namnażają się szybko i obficie w prowadzonych *in vitro* hodowlach komórek, otrzymanych z różnych narządów bydła. W hodowlach tych wywołują bardzo silne zmiany cytopatyczne i szybkie niszczenie hodowli. Zmiany cytopatyczne w jednowarstwowej hodowli komórek nerek cieląt objawiają się skurczeniem i zaokrągleniem zaatakowanych komórek, oraz silniejszym załamywaniem światła. Po 2—3 dniach, wszystkie komórki ulegają zniszczeniu. Jak wynika z obserwacji własnej, wirusy serotypu I wykazują szybsze działanie cytopatogenne niż wirusy serotypu II.

Badając dynamikę replikacji wirusów ECBO na modelu wirusa Za1 (serotyp I) autor wykazał, że adsorpcja wirusa wprowadzonego do płynu hodowli komórek nerek cieląt (HKNC) przebiega w czasie do 1 godziny. Po 2 godzinach od zakażenia wirus „znika” — następuje faza eklipsy. Wirus można ponownie wykryć w mianie wyjściowym po 4 godz. od zakażenia. Po 5 godzinach od wprowadzenia materiału następuje 10-krotny wzrost miana. Najwięcej wirusa w komórkach stwierdzono w 35 godzin po zakażeniu (w 60 godzin wszystkie komórki uległy zniszczeniu). W płynie tkankowym w ciągu 5 godzin po wprowadzeniu materiału, wirus wy-

stępował tylko w niewielkich ilościach. Zreplikowane wiriony pojawiały się po 5 godzinach. Ilość ich wzrastała powoli w ciągu 24 godzin, po czym następował gwałtowny wzrost, a po upływie 48 godz. stężenie zarazka w płynie było wyższe niż w komórkach (14). Również przy pomocy badań immunofluorescencyjnych wykazano, że pierwsze pojawienie się antygeny w komórkach następuje w 5 godz. po zakażeniu. Antygen lokalizuje się w cytoplazmie dookoła jądra tworząc tzw. aureolę („halo-like structure”). W niektórych komórkach antygen stwierdzono także w innych częściach cytoplazmy. Po pewnym czasie cała protoplazma wykazywała fluorescencję, następowała deformacja jądra i zepchnięcie go na brzeg zakażonej komórki (23). Wirusy ECBO ciałek wtretowych nie wytwarzają (14).

Zarówno I jak i II serotyp wirusów ECBO powoduje powstawanie w HKNC dużych ($\phi=3-4$ mm) lub małych ($\phi=1-2$ mm) łysinek (52, 54, 65, 69). Różnic antygenowych pomiędzy wirusami tego samego serotypu, wytwarzającymi duże wzgl. małe łysinki, nie stwierdzano (51, 93). Buczek badając 4 szczepy serotypu I i 4 serotypu II obserwował różnice w czasie powstawania łysinek. Wirusy serotypu I tworzą łysinki szybciej niż badane w tych samych warunkach wirusy serotypu II. Obserwacja ta może mieć pewne znaczenie pomocnicze przy różnicowaniu serotypów; wymaga to jednak dalszych badań na większej ilości szczepów.

Niektóre szczepy ECBO mogą być hodowane także na hodowlach komórek innych gatunków zwierząt i człowieka (8, 22, 26, 37, 38, 39, 40, 44, 51, 52, 58, 62, 66, 69, 70, 96).

Chorobotwórczość dla zwierząt laboratoryjnych.

Wirusy ECBO są w zasadzie niechorobotwórcze dla zwierząt laboratoryjnych: — jednodniowych myszy, myszy młodocianych, świnek morskich, chomików, królików (8, 15, 33, 39, 51, 58, 62, 69, 87, 89). Tym niemniej, niektórzy autorzy donoszą, że izolowane przez nich szczepy w pewnych warunkach wywoływały kliniczne objawy choroby u zwierząt laboratoryjnych.

Porażenia, przypominające klinicznie zakażenia wywołane przez wirusy Coxsackie A, obserwowali Kunin i Minuse (44) po dootrzewnym zakażeniu jednodniowych myszy, a Moll, Davis (62) u młodocianych myszy poddawanych działaniu kortizonu. Moll (61) wykazał, że izolowane przez niego szczepy wprowadzone dożylnie ciężarnym świnkom morskim namnażały się w łożysku powodując śmierć płodów, a inni autorzy obserwowali, że niektóre szczepy EB powodowały ronienia u świnek morskich (8, 93).

Badania epizootyczne i wyniki doświadczalnych zakażeń bydła.

Przeprowadzone badania wirusologiczne i serologiczne wskazują na bardzo szerokie rozprzestrzenienie wirusów ECBO wśród cieląt i bydła (2, 13, 19, 27, 28, 51, 54, 63, 69, 78, 81, 84, 92, 98, 99). Ilość zwierząt wydających zarazek z kałem maleje wraz z wiekiem. Luginbuhl i Black (54) wykazali, że 69% cieląt wydala zarazek w pierwszym roku życia; ilość ta spada do 15,6% u cieląt w wieku 1—2 lata i do 4,4% powyżej 2 lat. Procent zwierząt wydających zarazek wzrasta wg Moscovici i wsp. (69), Bürki (19) w okresie letnim, a wg La Placa i wsp. (51) w okresie zimowym. Stężenie zarazka w przeliczeniu na 1 g kału wg La Placa i wsp. (51) waha się w granicach od 60 do 1200 cząstek.

Wyniki dotychczasowych badań nie przyniosły zadawalającej odpowiedzi czy wirusy ECBO są chorobotwórcze dla bydła i cieląt w warunkach naturalnych. Jak wykazały badania doświadczalne szeregu autorów (8, 15, 30, 33, 36, 39, 70, 95), badane szczepy ECBO nie powodowały u zakażonych cieląt wyraźnych objawów choroby, ale namnażały się w organizmach zakażonych zwierząt i powodowały wyraźny wzrost miana przeciwciał. Niektórzy autorzy uzyskali jednak w warunkach prowadzonych doświadczeń kliniczne objawy zakażenia: wzrost temperatury, zapalenie narządu oddechowego, wpływ z nosa oraz łzotok u zakażonych cieląt (9, 28, 29, 60, 72, 84, 93).

Zmiany chorobowe w narządach rodnych u zakażonych jałówek opisali Straub, Böhm (90), Afshar i wsp. (1), Straub (88), a zmiany w narządach płciowych buhajów (jądra, napletek) Bouters (10) i inni badacze (9, 11, 12, 88). Ostre zapalenie wymienia po dowymieniowym wprowadzeniu zarazka obserwowali Straub i Kielwein (91).

Jak z powyższego wynika, wirusów ECBO nie można uważać za zarazki apatogenne, aczkolwiek nie posiadają one wyraźnie zdefiniowanych właściwości chorobotwórczych. Wywołują one wyraźną reakcję serologiczną, a także u większości zakażonych cieląt objawy chorobowe. Objawy te w warunkach doświadczalnych przebiegają najczęściej łagodnie. W warunkach naturalnych, zwłaszcza w środowisku niekorzystnym dla zwierząt, wirusy ECBO namnażając się w osłabionym organizmie, mogą ułatwić zakażenie mało patogenną florą bakteryjną, wnikającą pierwotnie łagodne zakażenie wirusowe, doprowadzające do cięższych objawów klinicznych jak zapalenie narządu oddechowego i biegunki nawet o charakterze enzootycznym. W schorzeniach tych trudno jest określić istotną przyczynę. Postępowanie lekarskie musi z konieczności ograniczać się do leczenia objawowego poszczególnych przypadków, oraz do poprawy warunków higienicznych i żywieniowych.

Piśmiennictwo, obejmujące 99 pozycji, u autora.

Adres autora: dr Jan Buczek, Lublin, ul. Akademicka 12.

CZESŁAW KUREK, GRACJAN CHYLIŃSKI, ROMAN CHYBALSKI

Przypadek mastitis u krowy wywołany przez *Clostridium perfringens* A.

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku
Kierownik: dr A. CZARNOWSKI

Zapalenie gruczołu mlecznego u krowy wywołane laseczkami zgorzeli gazowej (*Clostridium perfringens*) charakteryzuje się bardzo ostrym przebiegiem klinicznym. Obserwuje się silny obrzęk zapalny zakażonego gruczołu, a jego wydzielina ma charakter płynu posokowatego, niejednokrotnie z domieszką pęcherzyków gazu. Proces chorobowy ulega często uogólnieniu prowadząc do śmierci zwierzęcia w ciągu 24—48 godzin. W przewlekłej postaci dochodzi do zgorzelinowego zapalenia tkanki gruczołu mlecznego i nieodwracalnych zmian anatomopatologicznych prowadzących do trwałej bezmleczności (2, 5).

Przypadki mastitis wywołane laseczkami zgorzeli gazowej są bardzo nieliczne i niewiadomo które z serotypów *Cl. perfringens* wywołują zgorzelinowe zapalenie gruczołu mlecznego (2).

W piśmiennictwie krajowym brak wzmianki na temat występowania mastitis u krów na tle *Cl. perfringens*.

Badania własne

Obserwacje kliniczne. U pierwiastki rasy ncb, wykazującej cechy bardzo dobrego odżywienia i kondycji, stanowiącej własność hodowcy indywidualnego Ob. J. L. zamieszkałego w miejscowości P., zauważono 24 godziny przed porodem zasinienie skóry lewej tylnej ćwiartki wymienia, które w ciągu następnych kilkunastu godzin przyjęło zabarwienie fioletowo-czarne.

Tuż po porodzie, który przebiegł prawidłowo i we właściwym terminie wystąpił obrzęk wymienia znacznego stopnia, a w zmienionej chorobowo ćwiartce lewej tylnej pojawiła się